ラスで，前者は 0.1~0.5 mm 後者は 0.3~0.4 mm の大きさを示す。何れも寄主細菌の Strains に関係なく同様の plaques を形成する特徴が見られる。寄主細菌の種類は一定であつても，バイラスの種類が違えば plaques の形状は異なることもこの実験結果から明らかである。*Pseud. solnacearum* phages には plaques の大小より見ると，S6 phage の如く大形を作るもの，S2, S3, S5 及び S8 phages などの如く中形を作るもの及び S4, S7 phages の如く小形を作るものとの3種がある。

IV　各種バイラスの Host range

細菌バイラスには細菌寄主に対する範囲が広いものと狭いものとがある。換言すれば特異性の弱いものと強いものとがある。これは種を異にした細菌に対しても，又一種の細菌の内の種々なる Strains, colony types 或は serological types に対しても見られる現象である。植物病害に関係ある細菌では Fulton (1950) が *Pseud. tabaci* 及び *Pseud. angulata* について2種の phages を分離し，その内1種は *Pseud. lachrymans* を，他の1種は *Pseud. phaseolicola*, *Pseud. syringae* 及び *Pseud. coronafaciens* を侵し，又 *Pseud. tabaci* の菌株の内にはこれらの phages に感受性なるものと抵抗性なるものとがあると報じている。Kent (1937) は *Agrobacterium tumefaciens* について，岡部 (1938) は *Xanthomonas malvacearum* について，又 Mandell and Eisenstark (1952) は *Xanthomonas pruni* について，それぞれ違つた Strains の存在を phages によつて明らかにしている。colony types と phage との関係については Adam and Pugsley (1934) が *Pseud. phaseolicola* で，Muncie and Paiel (1930) が *Ag. tumefaciens* で，岡部 (1941) が *X. citri* で報告し，Serological type と phage については松本 (1939) が *Erwinia aroideae* について報告している。

Pseud. solanacearum phages が各種 Strains の寄主細菌と如何なる関係にあるかは前報告に於て記したので，こゝでは重複を避ける。たゞ phages の種類によつて Host range の広いものとそうでないものとがあることは明であつて，S8 phages のように Variant として取り出されたものは一般に狭い Host range を持つている。1種の Strain のみに作用すると云つた特異性の極めて強いものは見出されない。S2, S3 phages は比較的に Host range の狭いバイラスで，S5, S6 phages は広いバイラスである。S4 及び S7 の両 phages は両者の中間に位するものと思われる。これらのバイラスが他の植物病菌細菌に対して如何なる反応を示すかについては未だ明らかではない。

バイラスと寄主細菌との関係は病原性型であるF型菌，特に Spiral F型菌との関係に於て究明せられたのであるが，*Pseud. solanacearum* には人工培地上のみならず，病植物体内に於ても種々違つた colony types のものが見出される。従つて単に Sp. F型のみならず Het. F, Homo F, Op 型その他の colony types との関係についても究明する必要があるわけである。

ス粒子 20~100/cc. を含む液 0.9 cc. と 48 時間培養の potato dextrose solution 0.1 cc. とをそれぞれ違つた量の上層用培地（寒天濃度 2 %）と共に流し込み培養を行い，34°C に保温，24 時間後に観察した。この結果は第 3 表の如くであつて，培地の増量と共に plques は小さくなり，

Table 3. Relation of plaque size (mm.) to the ammount of plating medium.

Virus	Amount of medium (ml) / Final agar percent*	2	4	6	8	10
		1.3	1.6	1.7	1.8	1.9
S 1	Size after 24 hrs.	1.0~1.7 1.4	0.8~1.5 1.1	0.5~1.5 0.9	0.5~1.2 0.8	0.3~1.2 0.8
	Size after 48 hrs.	1.0~2.0 1.7	1.0~2.0 1.6	1.0~1.8 1.5	1.0~1.7 1.3	0.6~1.6 1.2
	No. of plaque	38	21	17	9	5
S 6	Size after 24 hrs.	2.5~5.0 4.0	1.7~4.3 3.6	1.0~4.0 3.2	1.0~3.5 2.8	1.0~3.2 2.2
	Size after 48 hrs.	3.0~6.0 5.3	2.8~5.8 5.0	2.5~5.8 5.0	2.0~5.8 4.8	1.8~5.8 4.5
	No. of plaque	140	131	106	105	95

* （菌液＋バイラス液）1ml に培地を加えて流し込んだので，重層培養した場合の寒天濃度は変化する。

且つその数も減少する。培地の量が 8~10 cc. になると，plaques の周縁が著しく不鮮明な小型 plaques を増加する。これは細菌に見られる所謂埋没コロニーに相当するもので，大形 plaques を形成する S 6 phage では後に拡大して表層に現はれるが，小形 plaques を形成する S 1 phage ではそれが少いので，48 時間後に於ける観察では前者は不鮮明 plaques を著しく減じ，後者ではそうでない。このことは培地の量の多少によつて plaques 数に変化を生ずる理由でもあると考へられる。

4. 温度との関係 バイラスを細菌と共に流し込み培養行ひ，34°, 25°C 及び室温に置いて調べた結果によると，発育適温に於て plaques が最も大きく且つ拡大性も強いことが判つた。特に S 6 phage はこの事実が顕著である。これは第 4 表に示す如くである。

5. 培地の種類との関係 培地の種類によつて plaques を明瞭に生ずる場合とそうでない場合とがあることは既に松本，岡部によつて報ぜられたところである。著者らのバイラスが培地の種類と如何なる関係にあるかは明らかでない。故にこれを知る目的で potato dextrose solution に培養した菌を potato dextrose agar に，又 Sucrose solution で培養した菌を Sucrose agar でそれぞれ流し込み，出現した plaques について比較して見た。この結果は表示すると第 5 表の如くであつた。但しこの実験に用いたバイラスは予め稀釈して 50~300/cc. の粒子を含むようにしたものである。

この結果より培地の種類は実験に用いたものの間では違いのあるものとそうでないものとが見られた。potato dextrose agar は Sucrose agar に比較して菌の発育が良好であるので，

Table 4. Relation of plaque size (mm.) to incubation temperature (°C)

Phage	First incubation Temp. (C)	Second incubation Temp. (C)*	Plaque size after 24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.
S 1	34°	34°	1.0~1.8 1.5	1.5~2.4 2.0	2.0~2.8 2.3
		25°		1.0~2.3 0.8	1.5~2.6 2.0
		R. T.×		1.0~1.8 1.5	1.1~2.0 1.6
	25°	34°		1.0~1.9 1.6	1.0~2.0 1.8
		25°	0.3~1.3 1.0	1.0~1.7 1.4	1.0~2.0 1.8
		R. T.×		0.3~1.3 1.0	0.3~1.5 1.3
S 6	34°	34°	2.0~4.4 3.8	4.0~6.5 5.5	5.0~8.5 6.5
		25°		3.0~6.0 5.0	4.0~6.5 5.5
		R. T.×		2.0~4.4 3.8	2.2~4.8 4.0
	25°	34°		3.0~5.7 5.0	4.0~6.0 5.5
		25°	1.5~3.7 3.0	2.0~5.2 4.8	3.0~6.0 5.3
		R. T.×		1.5~3.9 3.1	1.5~4.0 3.2

* Temperature changed after 24 hours incubatoin at 34° or 25°C. × R.T. 5°~10°C

Table 5 Relation of plaque size (mm,) to kind of plating medium.

Phage	S 1		S 2		S 3		S 4	
Host bacteria	B-19		B-6		T-c 69		B-33	
Medium	Potato agar	Sucrose agar	Potato agar	Sucrose agar	Potato agar	Sucrose agar	Potato agar	Sucrose agar
Size	0.8~2.0 1.1	0.6~1.3 1.1	0.3~1.5 0.9	0.8~1.3 1.1	0.5~1.3 1.0	0.5~1.8 1.3	0.2~0.5 0.3	0.2~0.5 0.3

Phage	S 5		S 6		S 7		S 8	
Host bacteria	S-IX		S-IX		P-33		T-13	
Medium	Potato agar	Sucrose agar	Potato agar	Sucrose agar	Potato agar	Sucrose agar	Potato agar	Sucrose agar
Size	0.8~2.0 1.4	0.8~1.8 1.4	1.5~4.4 3.8	2.0~5.0 4.0	0.2~0.5 0.3	0.2~0.5 0.3	0.4~0.8 0.6	0.5~1.0 0.8

plaques の形成は明瞭である。しかし plaques の周縁部は Sucrose agar に於てより判然とし，大きさは一般に大きい。特に注目されるのは Sucrose agar を用いたものに plaques の出現数が多い点で，このことは Sucrose solution 培養の菌を使用し，potato dextrose agar で流し込みを行つた場合も同様である。故に plaques 形成用細菌としては potato dextrose solution 培養のものより Sucrose solution 培養のものを用いた方が良結果を得られることが判つた。この違いは如何なる原因によるか明らかではないが，potato dextrose solution 培養の菌或は培養中

以上の内，S4 phage 及び S6 phage は全く同一材料より異種の菌を用いて分離されたものである。この両者は比較の結果全く別な種類であることを明らかにせられたので，自然状態では異種のバイラスが混在している場合もあることを示唆せるものとして興味深い。

III 溶 菌 斑

細菌バイラスは条件さへ一定であれば，変異を起さない限り，それぞれの種類に特有な形状の plaques を生ずる。故に plaques はバイラスの種類を判定，分類していく上に極めて重要なる特徴であつて，一般的には小粒子のバイラスは大型の plaques を，大粒子のバイラスは小型の plaques を形成する傾向にあることが知られている。plaques の形，大さ，暈の有無は作用せしめた細菌の age，量，培地の種類，pH，寒天濃度，或は温度などに支配されるのは勿論であるが，数種の細菌に作用するバイラスの場合には，細菌の種類によつても異なり，又バイラスの種類或はバイラス自体の中に混在する Variant のためにも変つたものが出てくる場合がある。故に各種バイラスの plaques を比較して，それぞれの特徴を捕へていくためには，以上のような点を十分注意して実験を進めていく必要があることは無論である。以下 *Pseud. solanacearum* phages の場合，plaque 形成に及ぼす条件が如何なる影響を与へるかを比較した結果を示すと次の如くである。

1. 細菌量との関係 Potato dextrose agar slant に 48 時間培養のF型集落菌を滅菌水で Suspension とし，これを原液として種々なる割合に稀釈した菌液 0.5 cc. に，バイラス粒子を 50～100/cc. 含む液 0.5 cc. を加へて 2 cc. の potato dextrose agar で流し込んだ。培養には重層法を用い，下層は 10 cc. の同じ培地を流し込んで予め凝固せしめておいた。供試菌は B-19 (B-I strain) 及び S-IX (B-II strain) の 2 種で，細菌原液の菌量は B-19 が 7.0×10^9, S-IX が 8.0×10^9 である。この結果は表示すると次の如くである。

Table 1. Relation of plaque size (mm.) to number of plating bacteria.

Virus	Dilution of bacteria	Original solution	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/100
S 1	Size after 24 hrs.	0.1~0.2 0.1	0.1~0.4 0.3	0.1~0.8 0.5	0.3~1.0 0.9	0.3~1.2 1.0	0.8~1.4 1.2	0.8~1.4 1.2
	Size after 48 hrs.	0.3~0.5 0.2	0.3~0.7 0.5	0.3~1.0 0.8	0.8~1.2 1.0	0.8~1.5 1.2	1.0~2.0 1.5	1.0~2.0 1.7
	No. of plaque	15	15	18	19	19	20	19
S 6	Size after 24 hrs.	0.8~2.0 1.8	0.8~3.0 2.5	1.5~3.3 2.7	2.0~3.6 3.1	2.0~4.0 3.4	2.5~4.0 3.6	2.5~4.5 3.8
	Size after 48 hrs.	0.8~2.5 2.0	0.8~3.2 2.7	1.5~4.0 3.0	2.5~5.0 4.0	3.0~5.6 4.2	3.0~5.6 4.5	3.0~5.6 4.5
	No. of plaque	88	102	101	96	96	100	98

この結果は多くの細菌バイラスについて認められている如く，plaques の大きさは菌量を少くするに従ひ増大している。特に S6 phage に於て明瞭である。暈の形成は認められない。$\frac{1}{100}$

の稀釈では菌量が少いために往々 plaques の不明瞭化を起すが，培養時間の延長によつて次第に明瞭な plaques を形成するようになる。plaques 形成に適当な細菌量としては 1 cc. 当り大体 1.5×10^8 の細菌を含んだ Suspension 0.5 cc. あればよいことになる。この結果から見ると，通常 potato dextrose solution の 24 時間培養は 1 cc. 当り約 7.6×10^8 の菌数を含んでいるので 0.1 cc 用いればよく，Sucrose solution では 2.0×10^8～3.5×10^8 の菌数を含んでいるので 0.2～0.3 cc. 用いればよいことになる。換言すれば，菌量としては流し込みに用いる培地の量 1 cc. に対し，potato dextrose solution culture であれば 0.05 cc., Sucrose solution culture であれば 0.1～0.15 cc. を使用すればよいことになる。

2. 上層培地の寒天量との関係　寒天含量が plaques の形状に関係あることは多くの細菌バイラスについて報告せられている。青枯病菌バイラスの場合，これが如何なる関係にあるかは次の如くして調べてみた。

寒天含量 2% の potato dextrose agar 10 cc. を base layer として用い，上層に寒天含量を異にした同じ培地を 2 cc. 宛，細菌と稀釈バイラスとを混じて流し込んだ。34°C に保温した場合，24時間後に於ける結果は次の如くであつた。

Table 2. Relation of plaque size (mm.) to percentage of plating agar.

Virus	Initial agar percentage / Final agar percentage* / Plaque	1 / 0.6	1.5 / 1.0	2 / 1.3	3 / 2.0	4 / 2.6
S 1	Size after 24 hrs.	0.8～1.8 1.4	0.5～1.4 1.2	0.3～1.2 1.0	0.3～1.0 0.8	0.3～0.7 0.5
	No. of plaque	29	28	24	29	25
S 6	Size after 24 hrs.	2.0～5.0 4.5	1.8～4.4 3.8	1.5～3.4 3.0	1.5～3.0 2.5	1.2～2.7 1.8
	No. of plaque	86	86	82	86	76

* （菌液＋バイラス液）1ml に上層培地 2ml を加えて流し込み培養したので重層培養した場合，実際の寒天濃度は 2/3 となる。

この結果は矢張り寒天含量の少い培地に於て大きな plaques を形成するのが認められた。大きさの違いのみで他の形状には変りがない。しかし寒天量の少い場合は培地が軟らか過ぎて取扱いに不便であるので，1.5～2.0% が適当である。

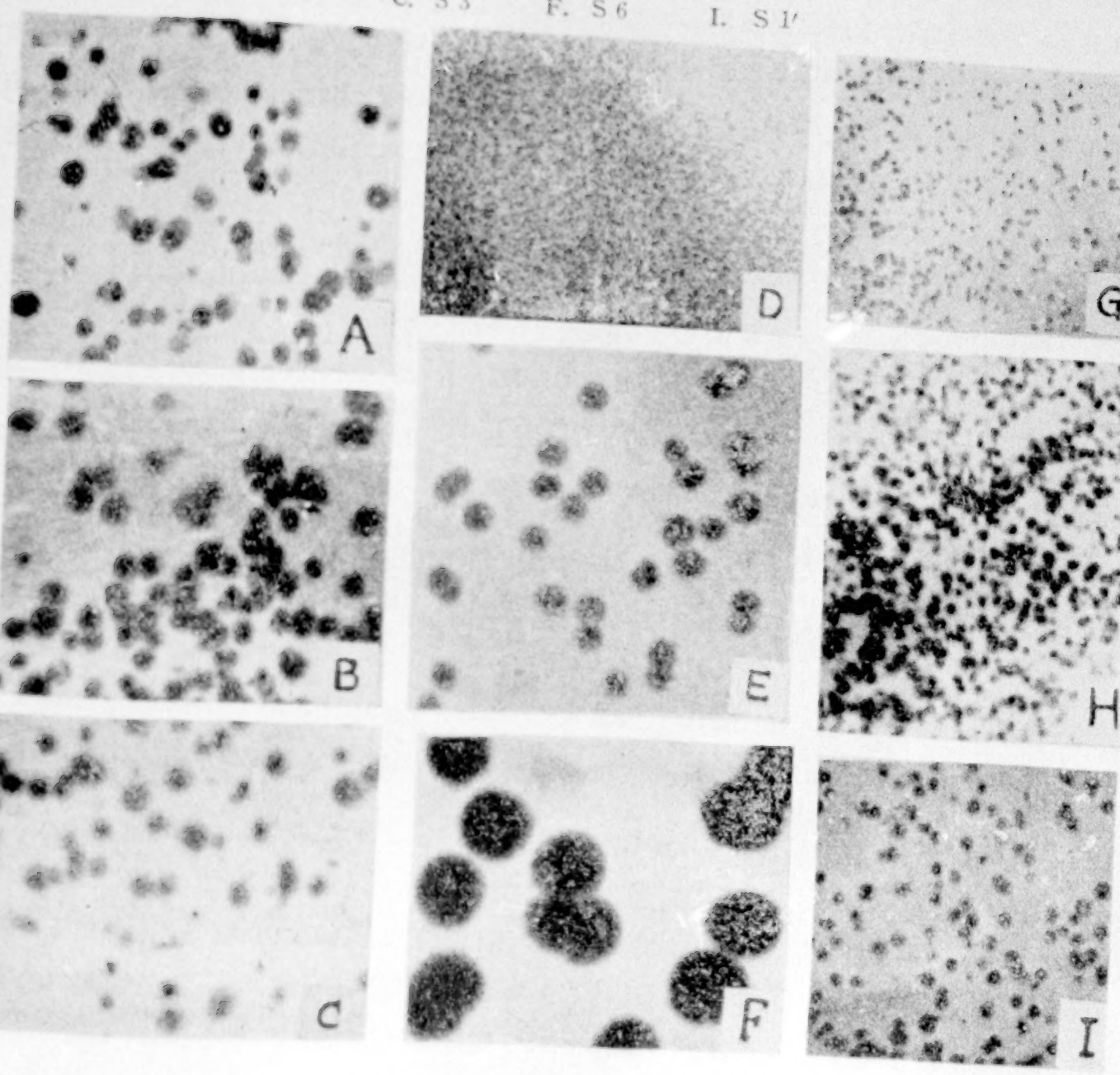
3. 上層培地の量との関係　重層法に於て上層に流し込む培地の量は多過ぎれば実験誤差が大となり且つ plaques の特徴は捕え難く，少な過ぎれば base layer の全面に一様に拡がらず実験結果の判定を困難ならしめる。従つて使用培地の適量を見出すことは，実験結果の正確を期する上に，又 plaques の特徴をよく捕える上にも必要なことである。これを明らかにするために次の如き方法で実験を行つた。

寒天含量 2% の potato dextrose agar を base layer とした点は前と同様である。バイラ

と，各バイラスに特有な性質を捕えることができる。著者らはこれを明らかにする目的で potato dextrose solution 培養の菌及び抗血清を用い，各種バイラスについて One-step 増殖試験の手技方法に従い実験を行つてみた。この結果は第3図及び第 15 表の如くである。

Fig. 4. Plaques of the Solanacearumphages on potato dextrose agar plates.

A. S 1　D. S 4　G. S 7
B. S 2　E. S 5　H. S 8
C. S 3　F. S 6　I. S 1′



これより各種のバイラスは latent period 及び Average burst size に於てそれぞれ違つたものであり，latent period は S6 phage に於て最も短く，S2 phage に於て最も長い。又 Average burst size は S1 phage が最も多く，S4 phage は最少である。血清学的に S4 phage に類縁関係のある S7 phage は latent period でも近い関係にあるものと思われる。

これより各種バイラスはそれぞれの抗血清によつて中和せられる外，近縁関係にあるものは他のバイラスの抗血清によつても中和せられることが判つた。この結果から著者らのバイラスは次の6種の違つたグループに分け得ることが判明した。

Table 14. Serological groups of the "S" phages.

Group	Anti-serum	Phage	Group	Anti-serum	Phage
I	S 1	S 1 (S 1′)	IV	S 5	S 5, (S 5′, S 5″, S 5‴)
II	S 2,3	S 2, S 3, (S 2′)	V	S 6	S 6
III	S 4	S 4, S 7	VI	S 8	S 8

* Brackets shows the variants included in the same gruoups.

VIII 各種バイラスの潜伏期間及び平均放出量

バイラスは条件さえ一定であれば，それぞれの種類によつて菌体に吸着侵入後，一定の時間を経過した後に，これを破壊して遊離する。故に latent period 及び average burst size を求める

Fig. 3. One step growth curves of the "S" phages.

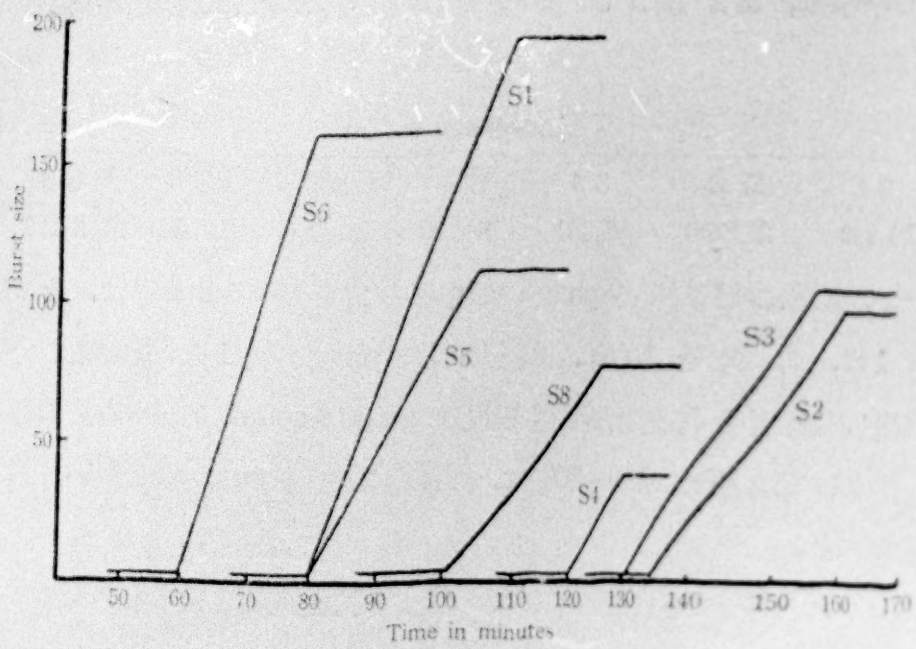


Table 15. Latent periods, raise periods and average burst sizes of the "S" phages.

Phage	Bacteria	Latent period	Raise period	Average burst size
		min.	min.	
S 1	B-19	80	25~30	190
S 2	B-6	135	25	96
S 3	T-69	130	20	106
S 4	E-3	120	10	31
S 5	S-IX	80	25	113
S 6	S-IX	60	20	163
S 7	B-33	120	10	30
S 8	T-13	100	25	76

1953. MANDEL, J. D. and A. EISENSTARK: Phytopathology 43: 27~29.
1957. FREIDMAN, M.: Journal of bacteriology 66: 501~502.
1953. FREIDMAN, M. and P. B. COWLES: Journal of bacteriology 66: 379~383.

Résumé

Studies on *Pseud. solanacearum*
II. A Comparative Study of *Pseud. solanacearum* bacteriophages

Norio OKABE and Masao GOTŌ

Eight viruses, active on their respective strains of *Pseud. solanacearum* have been compared in order to study their serogical, physical, and biological characteristics. The neutralization reactions indicate the existence of six immunological groups composed of (1) S1, (2) S2, S3, (3) S4, S7, (4) S5, (5) S6, and (6) S8. These viruses were different as to plaque size, host range, thermal inactivation point, stability in salt and pH solutions, latent period, and average burst size.

Their properties were as follows:

S1 phage (Serological type I)···Plaque size, medium, 0.8~2.0 mm. in diameter; specific for B-I strain; host range, narrow; thermal inactivation point, 55°C.; stability in salt solutions, stable; pH stability range, 6-9; latent period, 80 min.; average burst size, 190.

S2 phage (Serological type II)···Plaque size, medium, 0.3~1.5 mm. in diameter; specific for B-II strain; host range, narrow; thermal inactivation point, 72°C.; stability in salt solution, stable; pH stability range, 5~9; latent period, 135 min.; average burst size, 96.

S3 phage (Serological type II)···Plaque size, medium, 0.5~1.3 mm. in diameter; specific for B-II$_6$ strain; host range, narrow; thermal inactivation point, 72°C.; stability in salt solution, stable; pH stability range, 5~9; latent period, 130 min.; average burst size, 106.

S4 phage (Serological type III)···Plaque size, small, 0.2~0.5 mm. in diameter; specific for B-II$_A$ strain; host range, relatively wide; thermal inactivation point, 64°C.; unstable in salt solution; pH stability range, 5~8; latent period, 120 min.; average burst size, 31.

S5 phage (Serological type IV)···Plaque size, medium, 0.8~2.0 mm. in diameter; specific for B-II$_J$ strain; host range, wide; thermal inactivation point, 61°C.; stable in salt solutions; pH stability range, 5~7; latent period, 80 min.; average burst size, 115.

S6 phage (Serological type V)···Plaque size, 1.5~4.4 mm. in diameter; specific for B-II$_6$ strain; host range, wide; thermal inactivation point, 60°C.; unstable in salt solutions; pH stability range, 5~9; latent period, 60 min.; average burst size, 163.

S8 phage (Serological type VI)···Plaque size, 0.4~0.8 mm. in diameter; specific for T-II$_6$ strain; host range, narrow; thermal inactivation point, 64°C.; unstable in salt solutions; pH stability range, 5~9; latent period, 100 min.; average burst size, 76.

Pseud. solanacearum の研究

II. 細菌バイラスの[illegible]とその特性について

Studies on *Pseud. solanacearum*

II. A Comparative study of *Pseud. solanacearum* bacteriophages

[illegible] Okabe and Masao Goto

岡 部 [illegible] ・ 後 藤 正 夫

緒　　言

[illegible] Bacteriophage [illegible]ものがあることは既に Coli phage その他について[illegible] Bacteriophage については今まで[illegible]ない現状である。先きに著者らは *Pseud. solanacearum* の[illegible] phages を分離し、これを利用すれば[illegible]ことを報告し、phages が *Pseud. solanacearum* の Strain [illegible]であることを紹介しておいた。[illegible] phages は host range [illegible]のみならず、他の多くの性状に於ても[illegible]バイラスについて比較研究を行い、[illegible]ることができたので、こゝにその[illegible]。

実 験 材 料

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	分 離 材 料
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]したタバコ
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]したタバコ
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]したトマトの[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible] strain) を分離したタバコの[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible] strain) を分離したトマトの[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible] phage [illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]を分離したトマトの[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible] indicator として S2 phage より分離された Variant

[illegible]、[illegible]を保存する。

Virus \ Isolate / Strain	T-c 193 T-IIB	T-c 123 T-II$_e$	T-13 T-II$_b$	E-c 4 T-IIB$_\alpha$	E-c 5 T-IB
S 1	−	−	−	−	−
S 2	−	−	⊕	−	+
S 5	⊕	−	⊕	⊕	⊕
S 6	−	−	⊕	⊕	+

+…Shows adsorption of virus without lysis.
−…Shows no adsorption of virus
⊕…Shows adsorption of virus with lysis.

バイラスの吸着率は細菌の種類及び菌液の age によつて区々であるが，大部分は 90% 以上である。これを見ると Host range の広い S5, S6 phages は多数の系統菌に吸着せられ，特に S5 に於て顕著である。S1, S2 phages に於ても溶菌を起す以外の Strains に吸着せられるのが判る。これが如何なる意味を有するかは吸着バイラスの運命を追究することによつて明らかになることゝ思う。恐らく菌の Strains の相互関係を探る端緒となものではなかろうか。

V バイラス不活性化温度

Pseud. solanacearum phage の不活性化温度については先きに松本，岡部 (1935) の報告があり，トマト青枯病菌の phage では 62°～63°C 10 分であつた。最近松井 (1951) は phage α について研究した結果，50°C 10 分で不活性化すると報告している。この違いは手技上の問題もあるであろうが，バイラスそのものの違いが最も主な原因であることは明らかである。著者らのバイラスが如何なる温度に於て不活性化されるかは興味ある点であるので，次の如き方法によつて実験を進めてみた。

実験方法 Potato dextrose solution 及び Sucrose solution を用いて 48 時間培養せしめ

Table 10. Numbers of Survivors after heating at various temperatures for ten minutes.

Phage \ Medium / Temp. °C	Cont.	50	52	54	56	58	60	62
S 1 Potato	378	160	40	8	0	0	0	0
S 1 Sucrose	370	145	24	6	0	0	0	0
S 4 (S 7) Potato	480	—	460	420	400	380	320	36
S 4 (S 7) Sucrose	480	—	15	2	0	0	0	0
S 5 Potato	318	—	—	220	103	41	4	0
S 5 Sucrose	317	—	—	102	11	8	0	0
S 6 Potato	180	120	89	56	24	5	1	0
S 6 Sucrose	180	20	15	4	0	0	0	0
S 8 Potato	120	86	62	51	39	22	2	0
S 8 Sucrose	160	31	11	2	1	0	0	0

colony types が変ることによつてバイラスの Host range も変つてくる場合があることは，一部の Strains に於て既に見出されている。これは Strains の種類によつて違つていて，colony type に定まつた特徴ではない。例えば或る Strain の Op 型菌は母体であるF型が抵抗性であるバイラスに対して感受性である。しかし或る Strain の Op 型菌では母体と同様に感受性であり，又他の Strain の Op 型菌では逆に抵抗性であると云つた事実が見出されている。故にこの問題については更に検討を加え，他日稿を改めて紹介したい。

次に以上のようなバイラス対細菌の関係は，バイラスが菌体に吸着侵入し，増殖して菌体の破壊を導き放出される迄の過程を対象としたものであるが，菌体の如何によつては，バイラスが吸着されるだけで，崩壊死を起すに至らない場合が見られる。吸着されたバイラスが菌体内あつて菌の増殖に伴い個体から個体へと伝わり，所謂共生的関係にある lysogenic strain となるものであるか，或は吸着バイラスが不活性化されるものであるかについては今後の研究課題でであるが，兎に角バイラスを吸着する細菌と吸着しない細菌との間には菌体の性状に相違があることは否め得ない事実であると思う。故にバイラス吸着の有無について4種の phages を用いて実験を行つてみた。

実験方法 *Pseud. solanacearum* の phage の吸着は松井(1951)によると 10～15 分間で大部分は完了する。故に遠心沈澱管を用いてこれに一定量の phage 液を入れ，細菌の potato dextrose solutin 24 時間培養 2 cc. を加えて攪拌しつゝ 34°C の恒温槽に 15～20 分保温，後直ちに遠心沈澱 (4,000 r. p. m. 20 分) せしめて上澄液に残つたバイラスを定量した。対照としては potato dextrose solution を以つて菌液に換えた。

結果 等9表に示した通りである。

Table 9. Relation between the adsorption and lysis of "S" phages on various strains.

Virus \ Isolate	S-9	B-19	T-36	T-c200	B-6	S-II	E-3	E-c 3	B-33
Virus \ Strain	B-0	B-I	B-I_a	B-I_b	B-II	B-II_a	B-II_b	B-II_f	B-II_h
S 1	⊕	⊕	+	−	−	−	−	−	+
S 2	−	−	−	−	⊕	+	+	+	−
S 5	⊕	⊕	⊕	⊕	+	⊕	+	+	+
S 6	−	−	−	+	⊕	⊕	⊕	⊕	−

Virus \ Isolate	S-V	B-c 54	T-c 69	E-cll	E-46	A-8	S-14	T-37	TG.
Virus \ Strain	B-II_d	B-II_e	B-II_c	B-II_g	B-III_a	B-III_b	B-III	B-III_c	T-I
S 1	−	−	−	−	⊕	−	⊕	+	+
S 2	+	+	+	−	−	⊕	−	−	−
S 5	⊕	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	−
S 6	⊕	⊕	⊕	−	−	⊕	−	−	−

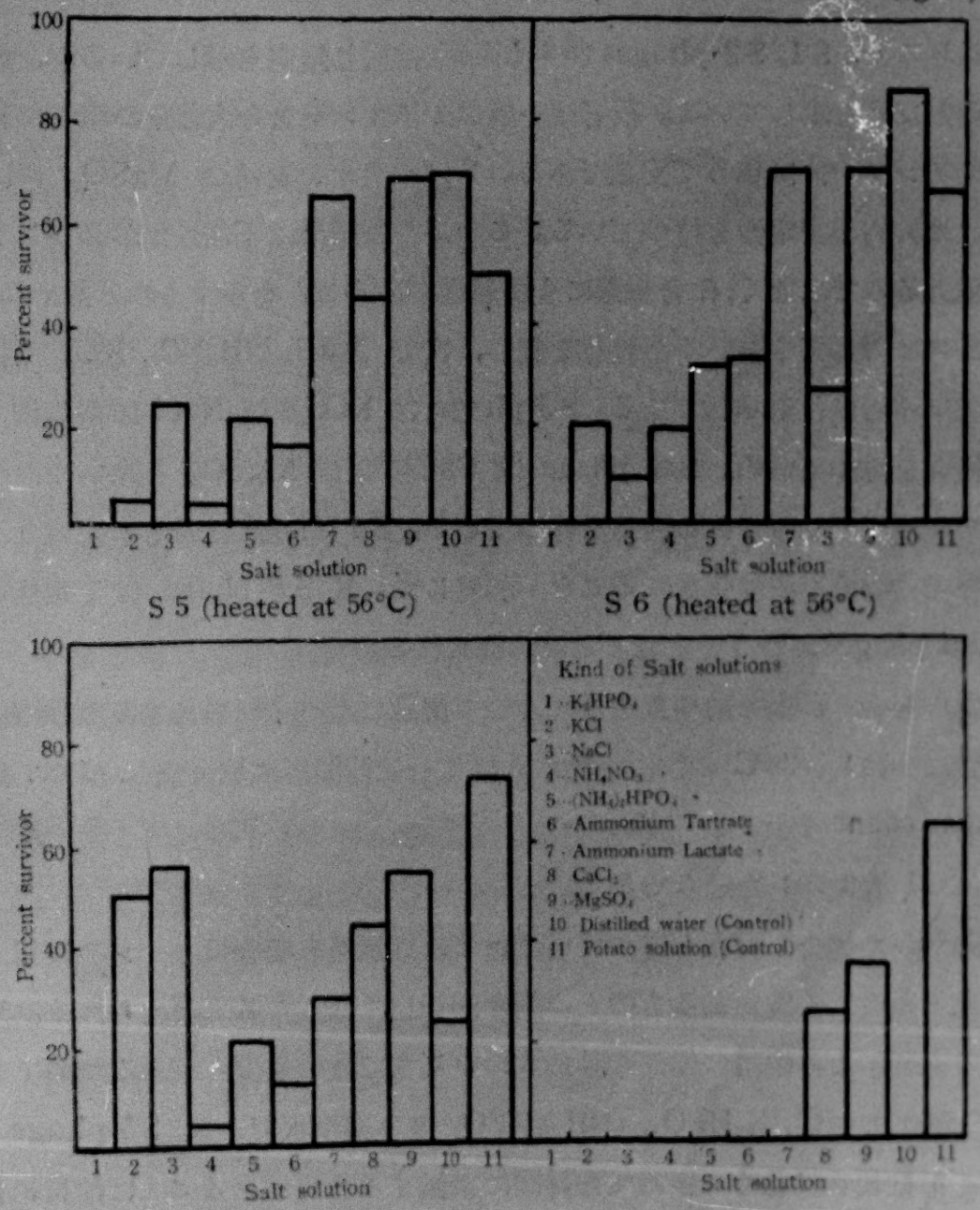
る。故に各種バイラスの塩類溶液中に於ける安定性並びに水素イオン濃度との関係を調べて見た。

A. 塩類溶液中に於ける安定性 1) 加熱した場合

実験方法　各種塩類の 1% 溶液，蒸溜水及び potato solution を用意して滅菌後，これらを用いて 100~500/cc. のバイラス粒子を含むようバイラス濾液を稀釈した。そしてそれぞれの液を 1 cc. 宛径 4 分の試験管に分注し，全部を一度に処定温度で 10 分間処理し，直ちに冷却して plaques 数を調べた。対照としては各種塩類，蒸溜水及び potato solution に加えたものを常温に 10 分間保つた後 plaque count した。

結果　2 回繰返して行つた結果から，加熱しない各種溶液中に於けるバイラス粒子を 100 とした場合，熱処理した各溶液中に残存せる活性バイラス粒子数の割合を示すと第 1～2 図の如くなる。

Fig. 1 Percent survivors of the "S" phages in salt solutions after heating for ten minutes



Phage	Medium \ Temp. °C	Cont.	66	68	70	72	74	76	78
S 2	Potato	150	77	49	21	1	0	0	0
(S 3)	Sucrose	154	58	5	3	0	0	0	0

* Brackets shows that they are inactivated in similar degree at same temperatures.

たバイラス濾液を 100~500/cc. になるよう稀釈し 1 cc. 宛を径4分の試験管に分注し，常法によつて一定温度に 10 分間作用せしめた後直ちに冷却，potato dextrose agar で流し込んで plaques 数を調べた。

結果 数回行つた実験成績の平均したものを表示すると，第 10 表の如くである。

これより各種バイラスの不活性化温度は次の如くであると推定される。

Thermal inactivation point (°C) in	Phage					
	S 1	S 2	S 4	S 5	S 6	S 8
Potato dextrose solution	55	72	64	61	60	60
Sucrose solution	55	70	54	59	55	56

供試バイラスの培養液によつて違いが見られ，Sucrose solution 中に於けるバイラスの不活性化温度が低いのは $(NH_4)_2HPO_4$ の影響によるもので，バイラスそのものの違いからではないと思われる。この点については後に言及するので，こゝでは触れない。不活性化温度は S2 phage に於て最も高く，類縁関係の近い S3 phages に於ても同様である。この点 S8 は S2 phage よりの Variant として得れたものではあるが，非常に違つた性質の所有者である。S1 phage は不活性化温度の最も低いものである。S1 より生じた S1′ variant も温度の点では全く同じである。S7 phage は S4 phage と同じ温度に於て不活性化される。この点ではこの両者は近縁関係にあるものと思われる。

VI 各種バイラスの安定性

各種バイラスは potato dextrose solution 或は Sucrose solution で培養保存すると，安定なものと不安定なものとがあつて，前者では数ケ月の貯蔵でも力価に殆んど変化がないといつてよい状態であるに対し，後者では僅か 10 日以内で殆んど不活性化される場合がある。これはバイラスそのものの特性であるが，培養環境に大きく影響されるものとそうでないものとがある結果であろう。

Fulton (1950) は *Pseud. tabaci* と *Pseud. angulata* の phages について，一価のカチオンを含む液体で稀釈すると不活性化されるが，低濃度の二価カチオンが含まれていれば不活性化は妨げられると報告している。その他にもこの現象を肯定するような実験報告は少なからず出てい

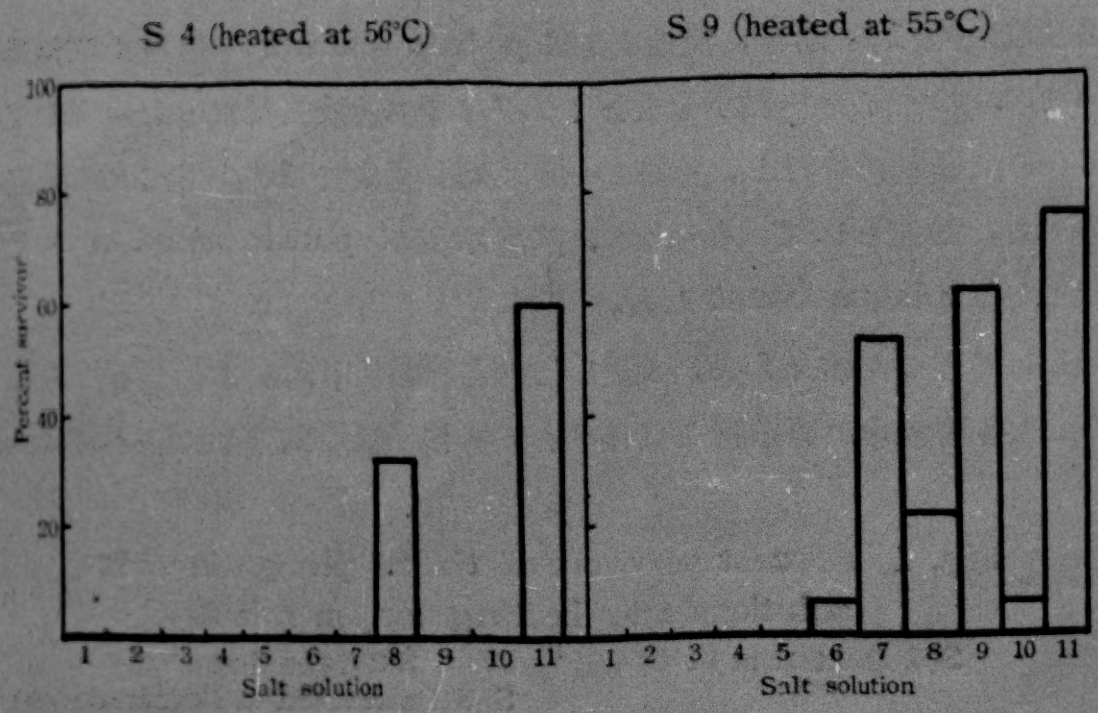
Table 11. Percent phages remaining after exposure to mono- and di-valent ions at 34°C

Phages	Salt solution	Time in minutes				Phages	Salt solution	Time in minutes			
		5	20	40	60			5	20	40	60
S 1	K_2HPO_4	61	61	56	40	S 5	K_2HPO_4	3	2	0	0
	KCl	85	82	82	80		KCl	49	41	37	27
	$(NH_4)_2HPO_4$	92	87	66	64		$(NH_4)_2HPO_4$	100	88	74	74
	Ammonium lactate	100	100	100	97		Ammonium lactate	100	100	98	98
	$MgSO_4$	100	100	97	72		$MgSO_4$	76	74	74	73
	$CaCl_2$	100	97	87	80		$CaCl_2$	86	60	58	47
	Distilled water	82	82	82	70		Distilled water	70	49	47	39
	Potato solution	100	100	100	100		Potato solution	100	100	100	100
S 2	K_2HPO_4	40	37	17	8	S 6	K_2HPO_4	0	0	0	0
	KCl	83	55	41	38		KCl	3	0	0	0
	$(NH_4)_2HPO_4$	96	83	60	55		$(NH_4)_2HPO_4$	29	22	0	0
	Ammonium lactate	90	83	80	80		Ammonium lactate	82	80	80	80
	$MgSO_4$	90	90	75	75		$MgSO_4$	100	90	90	90
	$CaCl_2$	71	68	55	50		$CaCl_2$	60	56	53	51
	Distilled water	100	92	83	83		Distilled water	90	0	0	0
	Potato solution	100	100	100	100		Potato solution	100	100	100	100
S 4	K_2HPO_4	0	0	0	0	S 8	K_2HPO_4	26	26	24	8
	KCl	0	0	0	0		KCl	24	24	24	6
	$(NH_4)_2HPO_4$	0	0	0	0		$(NH_4)_2HPO_4$	84	80	40	32
	Ammonium lactate	65	52	10	6		Ammonium lactate	100	80	55	40
	$MgSO_4$	91	91	91	87		$MgSO_4$	100	80	80	60
	$CaCl_2$	85	74	74	70		$CaCl_2$	69	65	55	42
	Distilled water	2	0	0	0		Distilled water	82	71	66	55
	Potato solution	100	100	100	91		Potato solution	100	100	100	82

以上の結果を綜合すると，塩類溶液中に於ける各種バイラスの安定性は，明らかに安定なるものと極めて不安定なるものとに分け得る。前者には S1, S2, S3, S5 phages があり，後者には S4, S6, S7, S8 phages がある。而して各塩類に対する安定性を見ると一般に Divalent ion を有する塩類には Monovalent ion を有するものより安定であるが，Mg^{++} には Ca^{++} よりも安定である。又 NH_4^+ はその化合状態によつて違いがあることも判つた。

B. 水素イオン濃度と安定性 培地の水素イオン濃度と各種バイラスの安定性との関係を知る目的で，potato solution に Na_2CO_3 及び HCl を加えて pH 3~10 の液を作り，これを使つて既知濃度のバイラス液を 100~500/cc. となるよう稀釈し，34°C に 1 時間保つて plaque count を行つ見た。この結果 pH 7 に於ける力価を 100 とした場合，1 時間の保温で力価に変化のなかつた反応は次の如くである。

Fig. 2 Percent survivors of the "S" phages in salt solutions after heating for ten minutes



この結果から見ると，S1, S2 phages (S3 も同様) は同じ傾向を示しているが，他のものは何れもそれぞれ別な反応を示している。前者は一価のカチオンを含む大部分の塩類に於て不安定である。但し乳酸アンモンには極めて安定である。2価カチオンを持つ $MgSO_4$ には安定であるが，$CaCl_2$ には比較的不安定性を持つている。このような結果は不活性化が必ずしもカチオンのイオン価に関係あるのではなく，化合形態にも関連性があることを示すものと思われる。K_2HPO_4 は何れのバイラスに対しても強い不活性化を起し，次で NaCl, NH_4NO_3, KCl も特定のバイラスに対しては強い不活性化を示している。S5 phage は KCl 及び NaCl に対し稍々定定なる点が他と違つた性質を持つている。S6 phage は $CaCl_2$ 及び $MgSO_4$ を除いた以外の塩類溶液及び蒸溜水中で極めて不安定である特徴を持つている。S4 phage は最も不安定なバイラスで，$CaCl_2$ 溶液以外では全く不活性化されることが判明した。又 S8 phage は安定性の少いバイラスであるが，S6 phage よりは安定であるのが知られる。

2) 加熱しない場合　前項と同様な方法によつて用意したバイラス添加の塩類溶液を 8 cc. 宛径6分の試験管に分注し，34℃ の恒温水槽に入れて一定時間毎に取り出し，1 cc. 宛とつて常法によつて plaque count をした。

この結果は第 11 表に示した通りである。

この成績は加熱した場合と可なり違つている。これは加熱の場合はイオンの作用が促進せられた結果，安定なるものと不安定なるものとの開きが著しくなるためと考えられる。又塩類の種類によつて温度の上昇による作用の促進が強いものとそうでないものとがあるためであろう。S4, S6 phages の両者は KCl, K_2HPO_4, $(NH_4)_2HPO_4$ 及び蒸溜水で，又 S5 phage は K_2HPO_4 で，それぞれ不活性化され易く，極めて短時間に消滅する性質があることは注目に値する。

以内には力価0となる。pH 4 以下では1日で消滅，pH 7 では25日，8及び9では 20 日，10 では10日以内に消滅する。なを Sucrose solution でも 25 日目には失われる。

S6 phage……pH 5~9 では 30 日後でも力価に変りがない。pH 10 では 25 日以内に，4 以下では1日目に消滅する。Sucrose solution では 20 日で失われる。

S8 phage……pH 5~9 では 15 日後に力価は0となり，4及び 10 では1日で失われる。Sucrose solution では力価は多少低下するが1ヶ月以上維持されている。

VII　各種バイラスの血清学的関係

Pseud. solanacearum phages は家兎に注射すると，特異性の強い抗体を生ずることは既に明らかにされている事実である。故にこの免疫血清を用いて交叉中和反応を試みると，バイラス相互間の類縁関係が判明してくる筈である。著者らはこれを明らかにするために，兎に 5 cc. 宛5日毎に注射し，2ヶ月後に採血して血清を取り，実験に供した。免疫血清の抗体価はバイラスの種類によつて違いがあり，S2 及び S3 phages は弱い。2ヶ月後に於ける抗体価を LD_{50} で示すと次の如くである。

Anti-phage serum						
S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 8
10,242	2,560	2,560	5,120	10,240	10,240	5,120

実験方法　一つの血清に対する各 phage の中和反応を調べるためには，その血清の 40 倍及び 80 倍稀釈液 1 cc. に，凡そ 10^5/cc. に稀釈した phage 液 1 cc. を加え混合して 37°C に2時間保温，後取出して血清を加えない対照と共に plaque count を行つた。この方法で中和応を示した phage に対しては更に 100~500/cc. に稀釈した phage 液を用い，如何なる稀釈度まで反応するかを調べた。

結果　各種バイラスとそれぞれのバイラスに対する抗血清とを交叉中和反応せしめた結果を要約すると，第 13 表の如くである。

Table 13. Serological relations of the "S" phages.

Serum \ Phages	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8
S 1	+	−	−	−	−	−	−	−
S 2	−	+	+	−	−	−	−	−
S 3	−	+	+	−	−	−	−	−
S 4	−	−	−	+	−	−	+	−
S 5	−	−	−	−	+	−	−	−
S 6	−	−	−	−	−	+	−	−
S 8	−	−	−	−	−	−	−	+

Phage	pH	Phage	pH
S1	5~7	S5	5~7
S2	6~7	S6	6~9
S4	6~6	S8	7~8

又 50% 以上活性であつた pH を示すと次の如くである。

Phage	pH	Phage	pH
S1	3~ 9	S5	5~ 9
S2	3~10	S6	5~10
S4	5~ 9	S8	5~ 9

又完全に不活性化する pH を示すと酸性側では S4, S5 及び S8 は pH 3, S6 は pH 4 であつた。S1, S2 phages は pH 3 に於ても 50~70% は活性であることが判つた。アルカリ側に於ては pH 10 で S4 phage が完全に不活性化したのみで他の phages は 30~70% の活性率を示していた。

次に以上のような反応液に 3℃ で貯蔵した場合，どの期間バイラスの力価が維持されるかを知る目的で，5日毎に調べた結果では次の如き成績を得た。

Table 12. Longevity of the "S" phages in days after exposure to different pH solutions kept at 34℃

Phage \ pH	3	4	5	6	7	8	9	10	Sucrose
S1	0	0	20	>30	>30	>30	>30	15	>30
S2	0	0	15	20	20	20	15	0	>30
S4	0	0	5	10	15	5	5	0	5
S5	0	0	20	20	20	15	15	5	20
S6	0	0	>30	>30	>30	>30	>30	20	15
S8	0	0	10	10	10	10	10	0	20

S1 phage……pH 6~9 では 30 日後に於て力価に殆んど変りがない。pH 4 では5日以内，pH 10 では 20 日以内，pH 5 では 25 日以内に消滅する。

S2 phage……pH 5~9 では 15 日後までは力価に殆んど変りがない。20日目になると pH 5 及び 9 に於て，25 日目には全部に於て力価は0となる。pH 4 及び 10 では 5 日以内に消滅する。Sucrose solution では 30 日後でも殆んど変らない。

S4 phage……pH 5~8 では 5 日目に力価に殆んど変りがない。pH 5 及び 8 では 10 日以内に 0 となり，pH 7 では 20 日以内に殆んど消滅する。又 pH 4 では 5 日以内に，pH 9 では 10 日以内に消滅する。Sucrose solution では 5 日目迄は変りがないが，その後は急に失われる。

S5 phage……pH 5~6 では 15 日目までは変りがないが，それ以後は次第に失われ，25日

著者らのバイラスの内には比較的安定なものと極めて不安定なものとがある。前者は目下のところ保存には大した困難はないが，後者は最も安定な potato dextrose solution に於てさえ何日を出でない。これは如何なる理由によるか究明を要する問題である。

著者らのバイラスは何れも菌の発育適温に於て最も強い溶菌を示し，温度が降るに従い弱くなる。plaques 形成には NaCl の添加は殆んど影響がない。この点は Pruniphage と著しく違った性状の所有者である。Pruniphage の場合には菌の発育適温以下に於て最大の plaques を形成し，33°C 以上では全く生じない。又 NaCl の添加量を増すことによつて plaques は却つて大きくなつている。植物病原細菌のバイラスとしては寧ろ malvacearumphage 及び citriphage に我々のバイラスは共通した点を持つている。各種バイラスの形態，相互間の干渉作用については今後の課題である。

X 摘　　要

1. 8種の solanacearumphages について比較研究した結果，これらは6種の血清学的に違つたグループに入るバイラスであることが判つた。F型菌を用いた結果によると，これらのバイラスが現わす plaques には大中小の3種があり，S6 phage は大形，S1, S2, S3, S5, S8 phages は中形，S4, S7 phages は小形溶菌斑を生ずる。

2. 不活性化温度は S2, S3 phages が最も高く 72°C，次で S4 phage の 64°C, S5 phage の 61°C, S6, S8 phages の 60°C，及び S1 phage の 55°C，の順である。S1, S2, S3, S5, S6 phages は potato solution 中で安定であるが，S4, S7 phages は極めて不安定で短時日で不活性化される。

3. 各種バイラスは塩類溶液中で比較的安定なものと不安定なものとに分れるが，一般に monovalent ion の存在に於て不活性化が早い。S1, S2, S3, S5 phages は比較的安定で，S4, S6, S7, S8 は不安定である。

4. latent period は S6 phage が最も短く 60 分，S2 phage は最も長くて 135 分である。Average burst size は S4 phage が最も少く 31°C, S1 phage は最も多く 190 であつた。

参 考 文 献

1930. MUNCIE, J. H. and M. K. PATEL: Phytopathology 20: 289～305.
1934. ADAM, D. B. and A. T. PUGSLEY: Australian Journ. Exp. Biol. and Med. Sci. 12: 193～201.
1935. 松本嶷，岡部徳夫：病虫害雑誌 22: 15～20
1937. KENT, G. C.: Phytopathology 27: 871～902.
1938. 岡部徳夫：日本植物病理学会々報 8: 230～246.
1939. 松本嶷：台湾博物学会報 29: 317～338.
1940. 松本嶷：全　上　30: 89～98.
1940. 岡部徳夫：台北農林学会報 5: 28～29.
1950. FULTON, R. W.: Phytopathology 40: 936～949.
1951. 松井千秋：九大農学部学芸雑誌 13: 36～39.

IX 論議及び結論

10種の solanacearumphages について比較した結果，これらは6種の serological groups に分れることが判つたが，Variants として得られたものはそれぞそ母体のバイラスと同じグループに入ることも明らかとなつた。たゞ例外としてS8 phageは母体 S2 phage と血清学的及び其他の性状において全く違つた性質のバイラスであるので，これが果して Variant として得られたものであるか或は偶然に混在していたのであるかは明らかでない。これは S2 phage との類縁関係を更に詳しく調べることによつて明らかになることゝ思う。S3 phage 及び S7 は Variant として得られたものではないが，究明の結果前者は S2 phage に，後者は S4 phage に近縁関係にあることが判つた。6種のグループに入るバイラスは総括すると，それぞれ次のような点で違つたものである。

Table 16. Summary of properties of the "S" phages.

Phage	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8
Serological type	I	II	II	III	IV	V	IV	VI
Plaque size in mm	0.8~2.0 1.1	0.3~1.5 0.9	0.5~1.3 1.0	0.2~0.5 0.3	0.8~2.0 1.4	1.5~4.4 3.8	0.2~0.5 0.3	0.4~0.8 0.6
Host range	narrow	narrow	narrow	wide	very wide	wide	wide	narrow
Thermal inactivation point in potato sol.	55°C	72°C	72°C	64°C	61°C	60°C	64°C	60°C
Stability in salt solutions	stable	stable	stable	unstable	stable	unstable	unstable	unstable
pH stability range	6~9	5~9	5~9	5~8	5~7	5~9	5~8	5~9
Latent period in minutes	80	135	130	120	80	60	120	100
Average burst size	130	96	106	31	113	163	30	76

以上は寄主細菌のF型菌について比較した結果であるが，*Pseud. solanacearum* には人工培地では勿論，自然状態にあるものでも菌落的性状に違つたものがあることは既にしばしば述べた。colony types によつてはバイラスに対する関係が異なるものもあることは明らかな事実である。従つて菌の colony types と云う観点よりバイラスとの相互関係が如何にあるかを明確にしておくことは，少くとも *Pseud. solanacearum* と云う変異性の強い細菌種の場合には，極めて肝要なことである。特に発病に関係ある毒力型の Sp. F, Hetero. F, Homo. F 菌などとの関係は重要である。これらは勿論，単菌の Strains 如何によつてそれぞれ colony types に特徴をあるので，strain を無視したものであつてはならない。バイラスの内には菌の strains 或は colony types に対して極めて強い特異性を示すものもあると思われる。これは選択を行うことによつて Variant として得られる可能性が強い。故にこれらについては将来未だ開拓すべき分野が極めて広く残されているものと思う。